五種台灣產獼猴桃屬植物抗氧化活性及其總多酚類成分含量之研究

林昆宏[1]　廖容君[2]　彭文煌[1]　謝明村[1]　吳金濱[3]　黃冠中[1]

中國醫藥大學　中國藥學研究所[1]　藥學系[2]　藥物化學研究所[3]

背景/目的　本研究擬探討台灣產獼猴桃屬植物之抗氧化活性及其總多酚類成分含量之間關係的研究，以期開發台灣固有藥用植物資源。

方法　本研究探討五種台灣產獼猴桃屬植物，包括台灣羊桃(*Actinidia chinensis* Planch var. *setosa* Li，ACS)、闊葉獼猴桃(*A. latifolia* (Gardn. & Champ.) Merr.，AL)、紅莖獼猴桃(*A. rubricaulis* Dunn，AR)、駝齒獼猴桃(*A. callosa* var. *ephippioidea*，ACE)、硬齒獼猴桃(*A. callosa* var. *callosa*，ACC)等，以50%乙醇萃取其莖部分析抗氧化活性；研究方法有Trolox總抗氧化能力、FRAP法、DPPH自由基清除染色法、清除DPPH自由基能力、還原力等，並將這些樣品進行總多酚類和黃酮醇類成分含量測定，以瞭解其抗氧化作用與總酚類含量之間的關係。

結果　在五種獼猴桃屬植物中以硬齒獼猴桃具有最高的總抗氧化活性及總多酚類含量。

結論　本研究證明五種台灣產獼猴桃屬植物之抗氧化活性與其總多酚類成分含量有正相關性。

(中台灣醫誌 **2008;13:19-26**)

關鍵詞

獼猴桃，抗氧化活性，自由基清除能力，還原力，總多酚類

前言

近年來研究顯示活性氧物種(reactive oxygen species，ROS)與人類常見疾病的發生有相當的關連性。許多文獻指出，活性氧產生過多不僅是許多疾病的主因，更會隨著組織傷害的發生而造成病灶更加的惡化。目前已知與活性氧自由基相關的疾病多達五十多種[1,2]。包括癌症[3]、動脈粥樣硬化[4]、衰老[5]、發炎反應[6]、免疫功能紊亂[7]等。近代科學的研究也顯示，過多ROS所造成的生物系統失調之機轉，與細胞內氧化－還原的狀態(intracellular reduction-oxidation state)、氧化物 (oxidant)與抗氧化劑(antioxidant)對基因表現的調節作用有重要的關係；故細胞的reduction-oxidation(redox)狀態能調節不同的生理功能。因此，許多疾病預防或治療的策略便是使用抗氧化劑。

獼猴桃類植物全株均可藥用，早在二千多年前的《爾雅》即有記載，而後《本草衍義》、《本草綱目》均有記載。中醫認爲其果性寒，味酸、甘，能調理中氣、生津潤燥、解熱除煩、通淋，用于治療消化不良、食慾不振、嘔吐、燒燙傷；其根、根皮性寒，味苦、澀，能清熱解毒、活血消腫、祛風利濕，用于治療肝炎、水腫、風濕性關節炎、跌打損傷、淋巴結結核、癰腫腫毒、帶下、胃癌、乳腺癌等[8]。最近研究獼猴桃植物在生藥學、化學成分、藥理作用等方面都有深度的探討[9]，台灣民間使用台灣羊桃之根莖當作藥材，用於強心利尿劑，並治療失眠等[10]。台灣羊桃莖乙醇抽取物具鎮靜、鎮痛、抗痙攣與抗發炎作用[11]。但同屬不同種植物或同種植物不同產地，其生物活性可能不盡相同。因此本實驗採集分佈於台灣常見的五種獼猴桃屬植物的莖部，來探討其抗氧化的活性，並測定抗氧化成分之含量，以期開發台灣固有藥用植物資源。

聯絡作者：黃冠中

地　　址：404台中市北區學士路91號
中國醫藥大學　中國藥學研究所

收文日期：2007年4月18日 修改日期：2007年5月23日

接受日期：2007年7月5日

材料與方法

實驗材料之抽取與分離

本實驗之材料有台灣羊桃(*Actinidia chinensis* Planch var. *setosa* Li，ACS)、闊葉獼猴桃(*A. latifolia* (Gardn. & Champ.) Merr.，AL)、紅莖獼猴桃(*A. rubricaulis* Dunn，AR)、駝齒獼猴桃(*A. callosa* var. *ephippioidea*，ACE)、硬齒獼猴桃(*A. callosa* var. *callosa*，ACC)共五種，其採集地點及座標如表一所示。所有標本經特有生物研究保育中心許再文先生鑑定及比對中央研究院標本室和相關文獻 [12,13]。標本並存特有生物研究保育中心及本所標本室。

將實驗材料去掉花、果、葉後之莖部洗淨、切片後陰乾，以50% 乙醇浸泡72小時後，用紗布過濾，收集濾液，如此反覆三次，合併濾液，再經減壓濃縮至乾，即得實驗材料莖部 50% 乙醇提取物。萃取率＝乾燥後之莖部50% 乙醇提取物／陰乾後之樣品重。

實驗試藥及儀器

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)，Potassium peroxodisulfate ($K_2S_2O_8$)，Tris (hydroxylmethyl) aminomethane，Glutathione reduced form (GSH)，Potassium ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$)，Trichloroacetic acid (TCA)，Ferric chloride (FeC_{13})，(＋)-Catechin，Aluminum chloride hexahydrate ($AlCl_3 \cdot 6H_2O$)，Rutin，Sodium bicarbonate (Na_2CO_3)，Sodium phosphate dibasic (Na_2HPO_4)，Sodium phosphate monobasic (NaH_2PO_4)購自 Sigma Chemical Co. (St. Louis，MO USA)，Folin-Ciocalteu solution，Methanol 和 Ethanol 購自 Merck，Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethychroman-2-carboxylic acid)、ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid) diammonium salt 購自 Roche。

實驗方法

Trolox 當量的總抗氧化能力的測定 (Trolox equivalent antioxidant capacity；TEAC)

以去離子水溶解 ABTS 使成濃度 7 mM，加入 2.45 mM 之 potassium persulphate。將此溶液於室溫下置於暗室反應 16 小時，使其生成穩定之藍綠色 $ABTS^{+}$ · 自由基。然後再以乙醇稀釋使在分光光度計 734 nm，其吸光值為 0.75 ± 0.05 的 $ABTS^{+}$ · 離子溶液。加入不同濃度的標準品 (trolox) 2 μL 於 20 μL 乙醇溶液中，再混合 180 μL $ABTS^{+}$ · 離子溶液，在一分鐘內由分光光度計 734 nm 測其吸光值，做成 trolox 之檢量線。樣品 (濃度為 125 μg mL^{-1}) 及對照組 (乙醇) 檢測同上，測得後再由 trolox 的檢量線換算其相當的濃度 (mM) [14]。

抗氧化能力的測定－Ferric reducing/antioxidant power (FRAP)

FRAP 工作溶液的製備為混合 25 mL 醋酸緩衝液 (250 mM，pH 3.6)、2.5 mL TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) 溶液 (10 mM) 及 2.5 mL $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 溶液 (20 mM)。取新鮮配置的 FRAP 工作溶液 200 μL 在水浴 37°C 下預熱，再以分光光度計在 593 nm 波長校正空白樣品 (水) 吸光度。將不同濃度的標準品 (trolox) 5 μL 於 15 μL 乙醇溶液中，再混合 200 μL FRAP 工作溶液，在半分鐘內由分光光度計 593 nm 測其吸光值，做成 trolox 之檢量線。樣品 (濃度為 125 μg mL^{-1}) 檢測同上，測得後再由 trolox 的檢量線換算其相當的濃度 (mM) [15]。

總多酚類含量測定

取 20 μL 樣品溶液及標準品 (catechin)，加入 200 μL 之蒸餾水，混合均勻，再加入 40 μL 的 Folin-Ciocalteu phenol 試劑 (Merck-Schuchardt，Hohenbrun，Germany)，靜置 5 分鐘，再加入 40 μL 之 20% 碳酸鈉 (sodium carbonate) 溶液，再以 680 nm 測其吸光值並計算總多酚類含量。總多酚類含量以 mg catechin equivalent/g dry weight 表示[16]。

黃酮醇類含量測定

取 40 μL 樣品溶液及標準品 (catechin)，加入 200 μL 之 0.1% p-dimethylaminocinnamaldehyde (溶於甲醇和鹽酸的體積比為 3：1)，混合均勻，靜置 10 分鐘，再以 640 nm 測其吸光值並計算黃酮醇類含量。黃酮醇類含量以 mg catechin equivalent/g dry weight 表示[17]。

DPPH 自由基清除效應

在 96 槽的微量平盤中加入 30 μL 不同濃度的試驗樣品之水溶液與標準品 glutathion (GSH)，之後再加入 120 μL 的 100 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4)，隨即迅速加入 150 μL DPPH 乙醇溶液 (500 μM)，使最後濃度成為 250 μM。均勻混合後於室溫下避光，靜置 20 分鐘，之後以分光光度計，波長 517 nm 下，測其吸光值。當 DPPH 自由基被清除愈多時，其吸光值會下降愈多，利用相對於空白對照組的吸光值下降百分比，可判斷各試驗樣品清除 DPPH 自由基能力之強弱，亦即表示試驗樣品供氫能力之強弱[18]。清除力計算公式為 $(1-ABS_{sample}/ABS_{control}) \times 100$。

DPPH 自由基清除染色法

將不同濃度的樣品及標準品 GSH 依序以 3 μL 的量負載在 20 公分 × 20 公分的 TLC 板子 (silica gel 60 F254 ; Merck)上，靜置使乾約 3 分鐘，待乾後，將 TLC 板子向上浸泡在盛有 0.4mM DPPH 溶液的槽中約 10 秒，將 TLC 板子拿出陰乾，多餘的 DPPH 溶液用薄紙輕輕擦拭，這時底色爲紫色的 TLC 板子上若有呈現白點，代表樣品有清除自由基的活性，出現白點的密度大小正比於 DPPH 的自由基清除能力[19,20]。

還原力測定

取 200 μL 適當濃度的試驗品溶液(以不同濃度的 GSH ， BHT 溶液做正對照組標準曲線)，加入 200 μL 200 mM 磷酸緩衝液(PH 6.6)與 1 mL 1% 赤血鹽 (potassium ferricyanide)。之後於 50°C 水浴反應 20 分鐘，急速冷卻後，加入 1 mL 10% trichloroacetiv acid 溶液 (以 95 % 乙醇製備)。於 6000 rpm 離心 10 分鐘。取上清液 100 μL 加入 100 μL 蒸餾水及 20 μL 0.1 % ferric chloride ($FeCl_3 \cdot H_2O$)溶液(以 3.5% 鹽酸溶液配置)混合均勻後，置放 10 分鐘，測定 700 nm 之吸光值。吸光值愈高，則表示樣品還原力愈強[21]。還原力計算公式爲 ABS_{sample}-$ABS_{control}$ (△ 700 nm)。

統計分析

數據均以三重複的平均值 ± 標準差(mean ± SD)表示，並以 Scheffe's multiple range test 來檢定不同處理間顯著差異效果， $p < 0.05$ 則有統計意義。

結果

萃取率

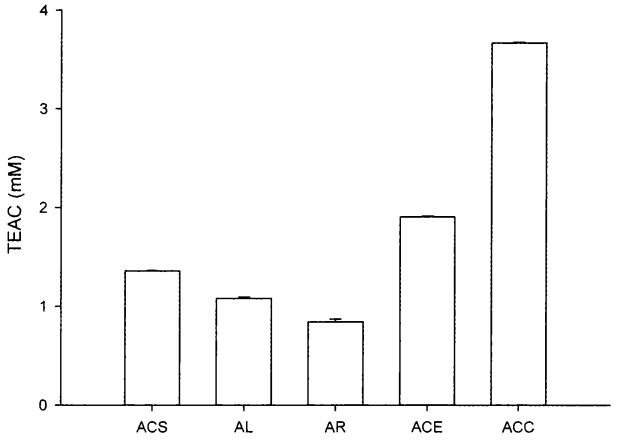
五種獼猴桃屬植物的莖部 50% 乙醇萃取率如表一。台灣羊桃(ACS)(5.56%)，闊葉獼猴桃(AL)(5.2%)，紅莖獼猴桃(AR)(4.89%)，駝齒獼猴桃(ACE)(5.85%)，硬齒獼猴桃(ACC)(6.12%)。

Trolox 當量的總抗氧化能力的測定(TEAC)：

總抗氧化能力主要是以清除 ABTS ·⁺陽離子自由基能力愈強表示其抗氧化能力愈高[22]；總抗氧化力實驗結果如圖一所示：由大至小依序爲硬齒獼猴桃(ACC) > 駝齒獼猴桃(ACE) > 台灣羊桃(ACS) > 闊葉獼猴桃(AL) > 紅莖獼猴桃(AR)。由此可知硬齒獼猴桃(ACC) 具有最好的總抗氧化能力。實驗組和控制組(乙醇)之間有顯著差異性 ($p < 0.05$)。

抗氧化能力的測定 — Ferric reducing/ antioxidant power (FRAP)

FRAP 分析方法是利用抗氧化物將 Fe^{3+} 還原成 Fe^{2+} ， Fe^{2+} 會與 tripyridyltriazine 形成錯合物，



圖一 五種獼猴桃屬其莖部 50% 乙醇萃取物對總抗氧化能力(TEAC)之影響：台灣羊桃(ACS)，闊葉獼猴桃(AL)，紅莖獼猴桃(AR)，駝齒獼猴桃(ACE)，硬齒獼猴桃(ACC)。Trolox 為標準品。(Data expressed as mean ± SD ， n = 3)($P < 0.05$) .

表一 五種獼猴桃屬植物的採集地點、座標及其莖部 50% 乙醇萃取物之萃取率(%)：

中文名	學名	縮寫	採集地點	莖部 50% 乙醇萃取物之萃取率(%)[a]
台灣羊桃	*Actinidia chinensis* Planch *var. setosa* Li	ACS	杉林溪 N23-38-23.6/E120-47-34.0	5.56
闊葉獼猴桃	*A. latifolia* (Gardn. & Champ.) Merr.	AL	南投九份二山 N23-56-59.0/E120-49-51.9	5.20
紅莖獼猴桃	*A. rubricaulis* Dunn	AR	北橫公路 N23-57-39.3/E120-50-04.8	4.89
駝齒獼猴桃	*A. callosa var. ephippioidea*	ACE	武陵農場 入口處約 1 公里	5.85
硬齒獼猴桃	*A. callosa var. callosa*	ACC	清境農場 青青草原門口前約 500 公尺	6.12

[a]:萃取率(%) = (乾燥後之莖部 50% 乙醇提取物／陰乾後之樣品重)× 100

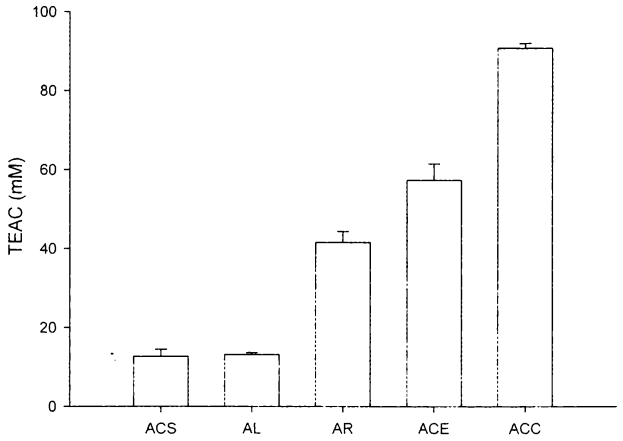
此錯合物於 593 nm 波長有最大吸收波峰，在此波長觀察抗氧化物還原 Fe(III)的能力。 FRAP 實驗結果如圖二所示：由大至小依序爲硬齒獼猴桃(ACC) > 駝齒獼猴桃(ACE) > 紅莖獼猴桃(AR) > 台灣羊桃(ACS) > 闊葉獼猴桃(AL)。由此可知硬齒獼猴桃(ACC)具有最好的抗氧化能力。實驗組和控制組(水)之間有顯著差異性 ($p < 0.05$)。

DPPH 自由基清除效應

在抗氧化的研究上通常使用 α，α-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH · $C_{18}H_{12}O_5$)來檢測抗氧化劑提供氫的能力。 DPPH · 是一種較穩定的自由基，常做爲電子順磁共振光譜(Electron paramagnetic resonance， EPR)的測定之用。 DPPH · 也被廣泛使用於研究一些天然化合物的自由基清除效應，如多酚類(polyphenolic compounds)、花青素(anthocyanins)或者混合粗抽出物如植物乙醇萃取物。 DPPH · 的甲醇溶液在 517 nm 會有強的吸收波，但是被抗氧化劑(AH)還原時，其吸收會消失或者降低[23]。故藉由測定 517 nm 的吸收值來判斷樣品是否具有清除自由基的能力。其反應可能如下：

DPPH · ＋ AH → DPPH ： H ＋ A ·

實驗結果顯示不同種的獼猴桃萃取物其 EC_{50} 如表二所示。自由基清除能力和劑量增加而上升，其活性大小由大到小依序爲硬齒獼猴桃(ACC) > 駝齒獼猴桃(ACE) > 紅莖獼猴桃(AR) > 闊葉獼猴桃(AL) > 台灣羊桃(ACS)。由此可知硬齒獼猴桃(ACC) 具有最好的清除 DPPH 自由基的能力。實驗組和控制組(乙醇)之間有顯著差異性 ($p < 0.05$)。



圖二　五種獼猴桃屬其莖部 50% 乙醇萃取物對總抗氧化能力(FRAP)之影響：台灣羊桃(ACS)，闊葉獼猴桃(AL)，紅莖獼猴桃(AR)，駝齒獼猴桃(ACE)，硬齒獼猴桃(ACC)。Trolox 為標準品。 (Data expressed as mean ± SD， n = 3) ($P < 0.05$)。

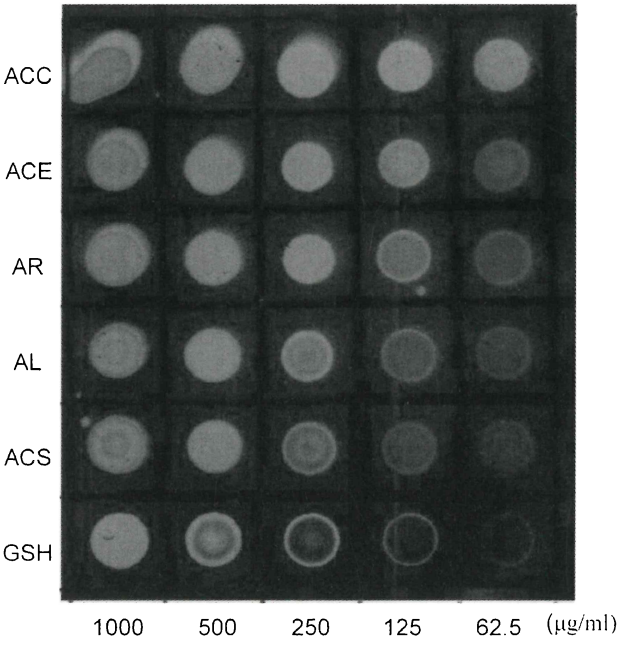
DPPH 自由基清除染色法

實驗結果顯示如圖三，在 62.5 μg mL^{-1} 的稀釋濃度時，紅莖獼猴桃(AR)、駝齒獼猴桃(ACE)和硬齒獼猴桃(ACC)均有濃密度的白點出現，尤其以硬齒獼猴桃(ACC))出現的時間最快；在 125 μg mL^{-1} 的稀釋濃度時，所有的樣本全都有濃密度的白點出現。文獻指出[17]出現白點的密度大小正比於 DPPH 的自由基清除能力(Free radical scavenging capacity， RSC)，因此，可比較出 RSC 由大至小依序爲硬齒獼猴桃(ACC) > 駝齒獼猴桃(ACE) > 紅莖獼猴桃(AR) > 闊葉獼猴桃(AL) > 台灣羊桃(ACS)。這結果與表二結果相同，ACC 具有最好的清除 DPPH 自由基的能力。抗氧化劑(GSH)在濃度 500-125 μg mL^{-1} 之間才有濃密度的白點。

表二　五種獼猴桃屬植物其莖部 50% 乙醇萃取物清除 DPPH 自由基的 EC_{50} 值

樣品	EC_{50} 值(μg /mL)
台灣羊桃(ACS)	> 500
闊葉獼猴桃(AL)	227.21 ± 1.51
紅莖獼猴桃(AR)	211.54 ± 1.40
駝齒獼猴桃(ACE)	121.52 ± 5.76
硬齒獼猴桃(ACC)	109.76 ± 4.43

Data expressed as mean ± SD ， n = 3 。



圖三　五種獼猴桃屬其莖部 50% 乙醇萃取物對清除 DPPH 自由基染色法之影響：由左至右樣品的濃度為 1,000， 500， 250， 125， 62.5 μg mL^{-1}，由上至下為：硬齒獼猴桃(ACC)，駝齒獼猴桃(ACE)，紅莖獼猴桃(AR)，闊葉獼猴桃(AL)，台灣羊桃(ACS)， glutathione (GSH)， GSH 為正對照組。

還原力測定

實驗結果顯示不同種的獼猴桃萃取物其還原力大小如圖四所示，隨樣品的濃度增加，其還原力也和劑量增加而上升。其由大至小依序爲硬齒獼猴桃(ACC) >駝齒獼猴桃(ACE) >紅莖獼猴桃(AR) >闊葉獼猴桃(AL) >台灣羊桃(ACS)。而與標準品GSH與BHT相比較，在劑量爲100μg mL^{-1}時，所有樣品的還原力均大於標準品。由此可知硬齒獼猴桃(ACC) 具有最好的還原能力。實驗組和控制組(水)之間有顯著差異性($p < 0.05$)。

多酚類及黃酮醇類的測定

五種樣品的多酚類及黃酮醇類的含量測定如表三所示，其含多酚類及黃酮醇類由大至小依序爲硬齒獼猴桃(ACC) >駝齒獼猴桃(ACE) >紅莖獼猴桃(AR) >闊葉獼猴桃(AL) >台灣羊桃(ACS)。實驗組和控制組(水)之間有顯著差異性($p < 0.05$)。

抗氧化活性和多酚類及黃酮醇類含量的相對關係

植物之多酚化合物對於抗氧化性與其生物活性扮演重要角色[24,25]，並有研究報告中指出多酚類化合物與抗氧化性具有正相關性[26,27]。在與Trolox當量的總抗氧化能力之相關性比較結果顯示其與總多酚類含量有正相關性的趨勢($R^2 = 1$，$p < 0.05$)(圖五)，也與黃酮醇($R^2 = 0.91$，$p < 0.05$) (圖六)有正相關性，故可推論其抗氧化能力是與多酚類含量相互的影響。抗氧化能力和FRAP成正相關性($R^2 = 1$，$p < 0.05$)(圖七)。

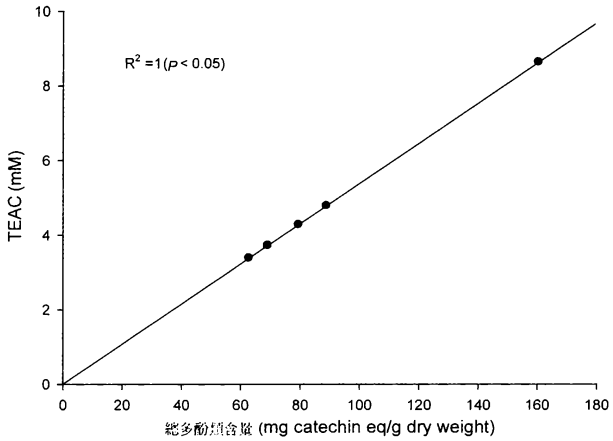
表三　五種獼猴桃屬植物其莖部50%乙醇萃取物之酚類含量

萃取物	多酚類[a]	黃酮醇類[a]
台灣羊桃(ACS)	69.20 ± 2.84	20.96 ± 3.93
闊葉獼猴桃(AL)	62.87 ± 0.94	37.41 ± 1.73
紅莖獼猴桃(AR)	79.45 ± 2.95	43.67 ± 2.08
駝齒獼猴桃(ACE)	88.84 ± 4.54	73.54 ± 6.52
硬齒獼猴桃(ACC)	160.37 ± 5.74	157.76 ± 4.95

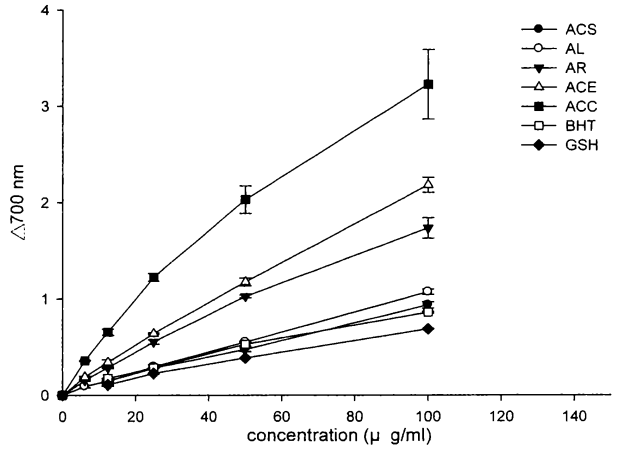
[a]Express as mg catechin equivalent/g dry weight。Data expressed as mean ± SD，n = 3。

討論

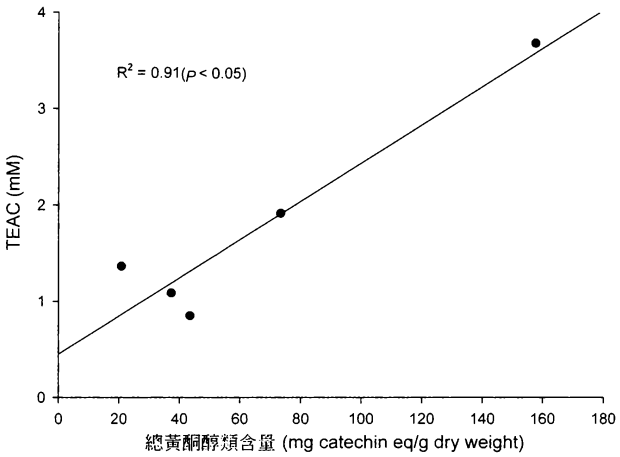
獼猴桃屬植物的食、藥應用歷史悠久。近年來，在紐西蘭國家之大力推廣下，奇異果已成獼猴桃果實的代名詞，盛行全世界。近代隨著醫藥保健品開發的不斷深入，獼猴桃屬植物的藥用價值逐漸被開發，例如中華獼猴桃的果實是一種營養豐富的水果，其果汁據研究有抗癌[28]、耐缺氧[29]、保肝[30]、抗炎[31]抗氧化[32]等作用。



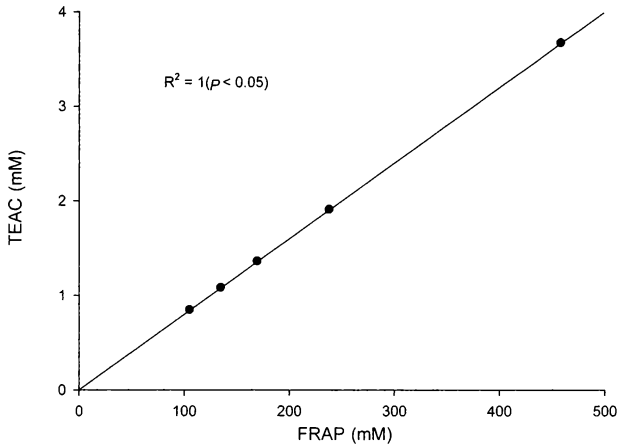
圖五　五種獼猴桃屬其莖部50%乙醇萃取物中總多酚類與TEAC總抗氧化能力之相對關係。Correlation coefficients (R^2) = 1。



圖四　五種獼猴桃屬其莖部50%乙醇萃取物對還原力之影響：台灣羊桃(ACS)，闊葉獼猴桃(AL)，紅莖獼猴桃(AR)，駝齒獼猴桃(ACE)，硬齒獼猴桃(ACC)，BHT和GSH為正對照組($P < 0.05$)。



圖六　五種獼猴桃屬其莖部50%乙醇萃取物中總黃酮醇類與TEAC總抗氧化能力之相對關係。Correlation coefficients (R^2) = 0.91。



圖七　五種獼猴桃屬其莖部50%乙醇萃取物抗氧化能力FRAP與TEAC之相對關係。Correlation coefficients (R^2) = 1。

而其根莖文獻考察有抗腫瘤[33,34]、免疫調節[35]、清除自由基[36]等作用。台灣民間使用台灣羊桃之根莖當作藥材，用於強心利尿劑，並治療失眠等。

自由基與疾病間之關係，在最近的研究上已陸續被證實，也由於現代生活中有越來越多的因素，如：紫外線、放射線、吸煙喝酒、緊張壓力、油脂的過度攝取等，促使在人體內加速細胞的氧化，從天然植物成分尋找抗氧化劑已是醫藥保健品開發的趨向，因此本實驗嘗試從臨床有效的藥用植物建立體外抗氧化篩選試驗的操作平台。

在本實驗中，發現五種台灣產獼猴桃屬植物中以硬齒獼猴桃(ACC)具有最好的抗氧化能力，其抗氧化能力與所含的多酚類有正相關性。另外硬齒獼猴桃(ACC)與駝齒獼猴桃(ACE)在種源上僅是變種的差異，但兩者所含的多酚類成分，卻有將近兩倍的差異。從文獻得知在中華獼猴桃的果汁中有大量的多酚類成分且具有明顯的抗氧化成分[32]。植物之多酚化合物對於抗氧化性與其生物活性扮演重要之角色[24,25]，並有研究報告中指出多酚類化合物與抗氧化性具有正相關性[26,27]，並且可能藉著由抗氧化能力來達到預防疾病的目的，例如富含類黃酮類成分的藍莓、蔓越莓及富含花青素成分的接骨木果實(Sambucus nigra)被證實具有保護內皮細胞避免其受到氧化壓迫，進而達到預防心血管疾病的發生[37]。山楂的乙酸乙酯萃取物含有多種類黃酮，如chlorogenic acid、epicatechin、hyperoside及isoquercitrin，具有抑制經由 Cu^{2+} 所誘導 LDL 氧化之作用及對 LDL 上之 α-Toc (α-tocopherol) 之保護而具有預防心血管疾病之發生[38,39]。類黃酮(Flavonoids)是多酚類化合物的一種，其抗氧化能力與類黃酮的結構有關[40]。在本實驗中也證實其抗氧化力與多酚類有正相關性，而且和類黃酮類中之黃酮醇類成分也有正相關性。而且其FRAP也與總抗氧化能力成正相關性。

參考文獻

1. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:7915-22.
2. Hogg N. Free radical in disease. *Semin Repro Endocrinol* 1998;16:241-8.
3. Dreher D, Junod AF. Role of oxygen free radicals in cancer development. *Eur J Cancer* 1996; 32:30-8.
4. Kunsch C, Medford RM. Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature. *Circ Res* 1999; 85:753-66.
5. Ashok BT, Ali R. The aging paradox: free radical theory of aging. *Exp Gerontol* 1999;34:293-303.
6. Conner EM, Grisham MB. Inflammation, free redicals, and antioxidants. *Nutrition* 1996;12:274-7.
7. Koner BC, Banerjee BD, Ray A. Effects of in-vivo genration of oxygen free radicals on immune responsiveness in rabbits. *Immunol Lett* 1997;59:127-31.
8. 全國中草藥彙編編寫組，全國中草藥彙編(上冊)。北京，科學出版社，1957;795。
9. 吳懷恩、甄漢深，鍾振國。獼猴桃屬植物的研究進展。*中藥材*，2004;27:59-63。
10. 邱年永，原色野生食用植物圖鑑。台北，南天書局發行，1997;117-8。
11. 蔣妍芬。剛毛獼猴桃對於中樞神經系統之藥理研究。中國醫藥學院中國藥學研究所論文。1994;34。
12. Huang TC. Flora of Taiwan. Taipei, Editiorial Committee of the Flora of Taiwan, Second Edition, Volume Two, 1996;656-61.
13. 呂福原、歐晨雄、呂金誠，台灣樹木解說。台北，行政院農業委員會出版，2000;27-30。
14. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourization assay. *Free Radic Biol Med* 1999;26:1231-7.
15. Benzie IFF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Anal Biochem* 1996;239:70-6.
16. Ragazzi E, Veronese G. Quantitative analysis of phenolic compounds after thin-layer chromatographic separation. *J Chromatogr* 1973;77:369-75.

17. Treutter D, Santos-Buelga C, Gutmann M, et al. Identification of flavan-3-ols and procyanidins by high-performance liquid chromatography and chemical reaction detection. *J Chromatog A* 1994a;667,290-7.
18. Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T, et al. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1,-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Biosci Biotechnol Biochem* 1998;62: 1201-4.
19. Soler-Rvans CA, Miller NJ, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci* 1997;2:152-9.
20. Chang WC, Kim SC, Hwang SS, et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Sci* 2002;163:1161-8.
21. Yen GC, Chen HY. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J Argic Food Chem* 1995;46:849-54.
22. Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, et al. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters* 1996;384:240-2.
23. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss U Technol* 1995;28:25-30.
24. Castelluccio C, Paganga G, Melikian N, et al. Antioxidant potential of intermediates in phenylpropanoid metabolism in higher plants. *FEBS Lett* 1995;368:188-92.
25. Kalt,Forney CF, A. Martin, et al. Antioxidant capacity,Vitamin C,phenolics and anthocyanins after fresh stroge of small fruits. *J Agric Food Chem* 1999; 47:4638-44.
26. Burns J, Gardner PT, O'Neil J, et al. Relationship among antioxidant activity, vasodilation capacity, and phenolic content of red wines. *J Agric Food Chem* 2000;48:220-30.
27. Sanchez-Moreno C, Satus-Gracia MT, Frankel EN, Antioxidant activity of selected Spanish wines in corn oil emulsions. *J Agric Food Chem* 2000;48:5581-7.
28. 宋圃菊。中華獼猴桃汁阻斷N-亞硝基碼琳合成。*營養學報*， 1984;6:109。
29. 明章銀，舒思潔。獼猴桃果汁對小鼠抗疲勞、耐缺氧的影響。*咸寧醫學院學報*， 1995;9:16-17。
30. 舒思洁，李立中，明章銀等。獼猴桃果汁對實驗性肝損傷大鼠血清轉氨酵素活性的影響。*咸寧醫學院學報*， 1997;11:61-3。
31. 唐藥靈，張小蕾。中華獼猴桃汁抗小鼠紅細胞脂質過氧化作用。*貴陽醫學院報*， 1994;4:20。
32. Motohashi N,Shirataki Y,Kawase M, et al.Cancer prevention and therapy with kiwifruit in Chinese folklore medicine:a study of kiwifruit extracts. *J Ethnopharmacol* 2002;3:357-64.
33. 林佩芳。中華獼猴桃多糖製劑對淋巴細胞及其亞群的作用。*中國免疫學雜誌*， 1989;5:182-5。
34. 鄒益友，譚桂山，謝兆霞。獼猴桃根抑制腫瘤細胞的實驗研究。*湖南中醫藥導報*， 1999;5:37-38。
35. 侯芳玉，孫延波，陳飛等。長白山產軟棗獼猴桃莖多糖免疫藥理作用的研究。*中國中藥雜誌*， 1995; 20:42-4。
36. 閻家麒，王九一，趙敏。中華獼猴桃多糖的提取及其對自由基的清除作用。*中國生化藥物雜誌*， 1995; 16:12-4。
37. Youdim KA, McDonald J, Kalt W, et al. Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults. *J Nutr Biochem* 2002;13:282-8.
38. Zhang Z, Chang Q, Zhu M, et al. Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. *J Nutr Biochem* 2001;12:144-52.
39. Chang Q, Zhu M, Zuo Z, et al. High-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of hawthorn active components in rat plasma. *J Chromatogr B* 2001; 760:227-35.
40. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem* 2002;13:572-84.

Antioxidant Activity and Total Polyphenol Content of Five Species of Actinidia

Kun-Hung Lin[1], Jung-Chun Liao[2], Wen-Huang Peng[1], Ming-Tsuen Hsieh[1], Jin-Bin Wu[3], Guan-Jhong Huang[1]

[1]Graduate Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, [2]School of pharmcy, [3]Graduated Institute of Pharmaceutical Chemistry, China Medical University, Taichung, Taiwan.

Background/Purpose. To evaluate the relationship between the antioxidant activity and total polyphenolic content in five species of *Actinidia* in Taiwan.

Methods. Using the Trolox equivalent antioxidant capacity assay (TEAC), Ferric Reducing Ability Assay(FRAP), DPPH staining, and the DPPH radical scavenging and reducing power method, we examined the antioxidant activities, as well as the total amount of polyphenol and flavonol contained in 50% ethanolic extracts of five Actinidia species: *Actinidia chinensis* Planch var. *setosa* Li (ACS), *A. latifolia* (Gardn. & Champ.) Merr. (AL), *A. rubricaulis* Dunn (AR), *A. callosa* var. *ephippioidea* (ACE), and *A. callosa* var. *callosa* (ACC).

Results. ACC had the highest total antioxidant activity and the greatest amount of total polyphenol content among the five species of *Actinidia*.

Conclusion. The antioxidant activities of the five species of *Actinidia* varied significantly and correlated strongly with total polyphenol content. **(Mid Taiwan J Med 2008;13:19-26)**

Key words

Actinidia, aantioxidant activity, aradical scavenging activity, areducing capacity, Polyphenols contents

Received : 18 April 2007. Revised : 23 May 2007.

Accepted : 5 July 2007.

Address reprint requests to : Guan-Jhong Huang, Graduate Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical University, 91 Hsueh-Shih Road, Taichung 404, Taiwan.